Aus der Medizinischen Klinik der Universität Rostock
Direktor: Prof. Dr. H. Curschmann

Das corticotrope Hormon
und seine Beziehungen zur Nebenniere
Ausarbeitung einer biologischen Testmethode für das corticotrope Hormon

---

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der zahnärztlichen Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät der Universität Rostock

vorgelegt von

Jos. A. Götte
aus Warburg i. W.

1935
Verlag von Gustav Neumann, Rostock
Druck von Ernst Vetter, Rochlitz

Referent: Priv.-Doz. Dr. A. Jores
Korreferent: Prof. Dr. H. Curschmann

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Seit langer Zeit ist bekannt, daß zwischen Gehirn und Nebenniere bestimmte Beziehungen bestehen. Schon im Jahre 1839 sprach Bergmann (1) von einer „sympathischen Beziehung zwischen Nebenniere und Gehirn", während Remak (2) 1847 die Nebenniere direkt als „Nervendrüse" bezeichnete. Man glaubte zunächst an eine allgemeine Beziehung zwischen Gehirn und Nebenniere schlechthin, was vor allem dadurch bekräftigt schien, daß Weigert (3) 1885 bei einem Anencephalen mit Nebennierenaplasie das Fehlen des Ganglion cervicale superior feststellte. Doch schon im Jahre darauf fand Weigert (3) bei mehreren Fällen von Nebennierendegeneration den Sympathikus völlig unverändert, womit die bisherige Theorie sich scheinbar als falsch herausstellte. Zander (4) und Weigert (3) zeigten kurz darauf, daß nur die Entwicklungsstörungen der vorderen Hirnregion eine Nebennierenhypoplasie zur Folge hätten, während das Zentralnervensystem vom Atemzentrum abwärts ohne Bedeutung sei für die Entwicklung der Nebennieren. Nun handelte es sich darum, die genaue örtliche Begrenzung des Hirnabschnittes, der mit der Nebenniere in Korrelation steht, zu finden. Das gelang im Jahre 1912 durch die Versuche von Ascoli (5) und Legnani, die feststellten, daß sich die Nebennieren hypophysektomierter Hunde von denen normaler Tiere wesentlich unterschieden. Sie fanden vor allem diffuse, herdförmige Blutungen in den Nebennieren, ferner als auffallendsten Unterschied eine Strukturänderung der Nebennierenrinde, wobei die Zona reticularis und fasciculata zu einer Schicht verschmolzen waren. Die Annahme, daß also Hypophyse und Nebenniere einander wesentlich beeinflussen, wurde 1920 von Hoffstätter (6) bekräftigt, der nach Pituitrininjektion bei Kaninchen eine starke Nebennierenvergrößerung fand. Was die Beziehungen von Nebenniere und Hypophyse bei Anencephalie betrifft, so ist nach Kohn (7) und Moehlig die Schrumpfung der Nebenniere bei Anencephalen so zu erklären, daß bei Mißbildungen im vorderen Hirnbereich meist auch die Hypophyse beteiligt ist. Moehlig (8) wies dabei auf die von Falta (9) und Kraus (10) gemachten Beobachtungen hin, bei denen bei Hypoplasie der Hypophyse, insbesondere Dystrophia adiposogenitalis, ebenfalls eine Atrophie der Nebennierenrinden gefunden wurde. Mit diesen Ergebnissen war nun noch nicht festgestellt, wie man sich die Wirkung der Hypophyse auf die

Nebennieren zu denken habe. Einen Fortschritt brachten die Versuche P. E. Smith's (11), der 1921 durch Fütterung von Vorderlappensubstanz die Nebennierenatrophie hypophysektomierter Tiere verhindern konnte. Zwischen- und Hinterlappensubstanz blieben wirkungslos.

J. Bauer (12) nahm an, daß in der Hypophyse ein „interrenotropes Hormon" vorhanden sein müsse, während D. Barr (13) die Wirkung des Hypophysenvorderlappens dem thyreotropen Hormon zuschrieb. Diese Ansicht wurde scheinbar bestätigt durch die Ergebnisse Loesers (14), der durch Injektion des thyreotropen Hormons Gewichtssteigerungen der Nebennieren auf 160—195% erreichte, so daß der Schluß berechtigt schien, die Wirkung des Hypophysenvorderlappens auf die Nebennieren sei nur eine sekundäre durch Hyperfunktion der Schilddrüse.

Hiergegen sprachen jedoch Cushing's (15) Befunde, der bei neun Adenomen der Hypophyse in acht Fällen eine Hypertrophie der Nebennieren fand, während die Schilddrüse klein war und eine Hypofunktion aufwies. Außerdem betonen Landau und Rautmann (16) ausdrücklich die Kleinheit der Nebennieren bei Basedow. Also ist wohl anzunehmen, daß der Effekt des thyreotropen Hormons kein spezifischer ist.

In neuester Zeit haben nun amerikanische und deutsche Arbeiten (Collip, Anderson und Thomson (17), Emery und Winter (18), Anselmino, Hoffmann und Herold (19), Schenk u. a.) zu der Isolierung eines Hormons geführt, dem Anselmino, Hoffmann und Herold den Namen des corticotropen Hormons gegeben haben, wegen seiner isolierten Beeinflussung der Nebennierenrinde.

Für das weitere Arbeiten und die weitere Erforschung dieses neuen Hypophysenhormons ist eine zuverlässige Testmethode erste Voraussetzung.

Um die Wirkung des corticotropen Hormons auf die Nebennierenrinde quantitativ zu erfassen, stehen prinzipiell zwei Wege zur Verfügung, der eine ist die Wertung der histologischen Änderung, der andere die Bestimmung der Gewichtszunahme der Nebennieren.

Ersterer ist jetzt von Anselmino, Hoffmann und Herold beschritten worden. Die Autoren definieren als eine C. E. (corticotrope Einheit) diejenige Menge Hormon, die bei einer Serie von jungen, geschlechtsreifen Mäusen nach 4tägiger Injektion am 5. Tage eine Vergrößerung der Zona fasciculata und glomerulosa um 50% hervorruft. Leider fehlen in der diesbezüglichen Arbeit der genannten Autoren Angaben darüber, wie diese Vergrößerung um 50% festgestellt werden soll, offen-

bar wird sie nur durch mikroskopische Betrachtung eines Schnittes geschätzt. Auch Untersuchungen über die Genauigkeit dieses Testes, wie weit Hormondosis und Nebennierenvergrößerung in einem linearen Verhältnis zueinander stehen, und so weiter, alle diese Angaben mit zahlenmäßigen Belegen fehlen vollständig, so daß mit dieser Definition einer Einheit praktisch wenig gewonnen ist. Gegenüber der Wertung der mikroskopisch feststellbaren Rindenverbreiterung sind einige prinzipielle Bedenken zu erheben. Die quantitative Wertung der im Schnitt sichtbaren Rindenverbreiterung hat zwei Voraussetzungen, einmal die, daß die Markzone immer genau zentral liegt und zum anderen die, daß die Nebenniere genau median geschnitten wird. Bei etwas schräger Schnittführung werden auch bei normalen Nebennieren Rindenverbreiterungen unschwer vorgetäuscht. Die Dinge liegen hier völlig anders als bei der Testung des thyreotropen Hormons. Dort sind es deutliche Umwandlungen in der Struktur eines Organs, eine Rindenverbreiterung ist eine physikalische Größe. Im Schnitt muß lediglich beachtet werden, daß sie auf einer Verbreiterung der Zona glomerulosa und fasciculata beruht. Bei der Ungenauigkeit, die an sich schon jeder biologischen Testmethode innewohnt, ist zu fordern, daß die Änderungen, die sich zahlenmäßig erfassen lassen, auch wirklich exakt gemessen werden.

Die Tatsache, daß die markanteste Wirkung des Hormons auf die Nebennieren nicht so sehr in einer strukturellen Umwandlung gelegen ist, als vielmehr in einer Rindenverbreiterung, veranlaßte Herrn Dr. Jores, mir die Aufgabe zu stellen, als quantitative Methode die unter der Hormonwirkung auftretende Gewichtszunahme zu prüfen. Prinzipiell wären gegen diese Methode folgende Bedenken zu erheben. Die Gewichtsvermehrung der Nebennieren ist kein spezifischer Effekt des corticotropen Hormons, sondern läßt sich auch noch durch andere Substanzen erzielen. Erste Voraussetzung ist die Verwendung völlig gesunder Tiere, da jede Infektion zu einer Gewichtszunahme der Nebennieren führt. Unter diesen Bedingungen ändert sich das Aussehen der Nebennieren, die nicht mehr gelblich erscheinen, sondern einen deutlichen rötlichen Schimmer erhalten. Des weiteren bewirken Eiweißlösungen eine Gewichtszunahme (Mackay [20]) und ferner eine Reihe von Hormonen, so das godanotrope Hormon, das Thyroxin und die Sexualhormone. Diese Schwierigkeiten lassen sich jedoch umgehen, wenn man die histologische Untersuchung mit hinzunimmt und nachsieht, ob die erzielte Gewichtszunahme der Nebennieren im wesentlichen auf einer Verbreiterung der Zona fasciculata beruht. Es genügt so bei dem Austesten einer unbekannten Lösung eine einmalige histologische Kontrolle

Unter der Voraussetzung der histologischen Kontrolle und Beachtung der Fehlermöglichkeiten durch Infektion, wie Eiweißgehalt der Lösungen, ist die Gewichtszunahme der Nebennieren ein Kriterium für die Wirkung des corticotropen Hormons.

Gegen die Bestimmung des Gewichts der Schilddrüse zur Testierung des thyreotropen Hormons, wie sie von Rowlands und Parkes (21) ausgearbeitet wurde, wurden kürzlich von Heyl und Laqueur Bedenken erhoben und nachgewiesen, daß der das Gewicht der Schilddrüse steigernde Faktor mit dem thyreotropen Hormon nicht identisch ist. Daß die Verhältnisse für das corticotrope Hormon prinzipiell anders liegen, wurde oben schon auseinandergesetzt.

Für unsere Versuche verwandten wir Extrakte, die z. T. aus Hinterlappen-, z. T. aus Vorderlappenacetontrockenpulver vom Rind und Schwein hergestellt wurden. Das Trockenpulver wurde uns in dankenswerter Weise von der chemischen Fabrik Promonta zur Verfügung gestellt.

Es wird wohl zu Unrecht von dem corticotropen Hormon als einem Vorderlappenhormon gesprochen. Man ist zu dieser Bezeichnung nicht berechtigt. Die erste Nebennierenvergrößerung, die mit Extrakten von Hoffstätter (6) erzielt wurde, gelang mit Hinterlappenextrakten. Jores und Beck (23) erzielten mit Pigmenthormon Nebennierenvergrößerungen. Auch diese Extrakte waren aus Hinterlappen hergestellt. Kürzlich hat ferner Jores (24) darüber berichtet, daß zwischen Nebennierenhormonen und den Hinterlappenhormonen Korrelationen bestehen. Alle diese Umstände lassen es als richtig erscheinen, von dem corticotropen Hormon nicht als einem Vorderlappenhormon zu sprechen. Es kommt im Vorderlappen reichlicher vor als im Hinterlappen, ist aber auch im Hinterlappen in solchen Mengen vorhanden, daß es sich in entsprechend hergestellten Extrakten unschwer nachweisen läßt.

Die für die Untersuchungen verwandten Lösungen wurden fast ausschließlich aus Hinterlappentrockenpulver, wie folgt, hergestellt.

2 g Trockenpulver wurden mit 10 ccm Aqu. dest. bei Zimmertemperatur eine Stunde geschüttelt, filtriert und zur Adsorption der Hinterlappenhormone 5 Minuten mit Tierkohle ausgeschüttet. Das Filtrat wurde mit Sulfosalizylsäure enteiweißt, neutralisiert und mit Aqu. dest. wieder auf die Ausgangsmenge gebracht. Durch die Fällung mit Sulfosalicylsäure tritt ein geringer Hormonverlust ein, den wir in Kauf nehmen, da eiweißfreie Extrakte für unsere Versuche unbedingt erforderlich waren. Die Lösungen wurden auf Abwesenheit von

Hinterlappenhormonen geprüft, sie sind auch frei von dem adrenalotropen Hormon und enthalten nach unseren heutigen Kenntnissen nur noch das corticotrope Hormon.

Da zu Testversuchen immer eine beträchtliche Anzahl von Tieren erforderlich ist, schienen uns größere Tiere wie Kaninchen und Meerschweinchen weniger geeignet, zumal bei dem billigsten und am leichtesten zu bekommenden Versuchstier, der weißen Maus, die Wirkung des corticotropen Hormons nach Anselmino, Hoffmann und Herold sehr gut nachweisbar ist. Außerdem ermöglicht die Verwendung weißer Mäuse mit wesentlich kleineren Hormonmengen auszukommen als bei größeren Tieren. Die Injektion des Hormons wurde intraperitoneal vorgenommen und von den Tieren immer gut vertragen.

Das Vorgehen zur Präparation der Nebennieren war das folgende:

Sofort nach der Tötung durch Nackenschlag wurden die Tiere gewogen, aufgespannt, das Abdomen eröffnet und mit einigen Scherenschnitten die Nieren mitsamt den Nebennieren herausgeholt. Sodann wurden die Organe auf ein gehärtetes Filter mit Korkunterlage gelegt und ohne Hilfe einer Pinzette durch ein feines scharfes Messer die Nebennieren abgetrennt und von anhaftendem Fettgewebe befreit. Das lockere, die Nebennieren umgebende Fettgewebe bleibt beim Hin- und Herschieben des Organs auf dem Filter haften und läßt sich dann gut von der viel konsistenteren Nebenniere abtrennen. Wenn sich dann die Nebenniere als frei von anhaftenden Gewebsteilen erweist, wird sie unter der binokularen Lupe betrachtet und dann werden nur noch solche Teile entfernt, auf die man durch Betrachtung durch die Lupe aufmerksam wird und die sich dann auch mit bloßem Auge erkennen lassen. Eine Präparation unter der Lupe ist unzweckmäßig, da sich dann Verletzungen der Nebenniere zu leicht ereignen. Nach der Präparation werden beide Nebennieren in ein Wägegläschen gelegt und auf einer Mikrowaage auf $^1/_{10}$ mg genau gewogen. Bei der Kleinheit der Organe spielt der Fehler durch Austrocknung eine gewisse Rolle. Die Zeit zwischen Entnahme und Einlegen in das Wägegläschen dauert bei Übung 3—4 Minuten. Wenn darauf geachtet wird, diese Zeit konstant zu erhalten, ist der durch Austrocknung entstehende Fehler wohl unwesentlich. Die Präparation der Nebennieren erfordert etwas Übung.

Eine jede Testmethode, die sich auf die Gewichtszunahme eines Organs stützt, hat die Kenntnis der Verhältnisse beim normalen Tier zur Voraussetzung. Nach den Feststellungen von Freemann (25) ist die Nebenniere beim Menschen die

einzige innersekretorische Drüse, die ihrem Gewicht nach eine feste Korrelation zum Körpergewicht erkennen läßt. Auch Loeser (26) fand beim Meerschweinchen eine feste Beziehung zwischen Nebennierengewicht und Körpergewicht. Wir können das für die Nebennieren der weißen Maus bestätigen, und zwar beträgt das Nebennierengewicht in mg etwa den fünften Teil des Körpergewichts in g ausgedrückt. Dieser Quotient beträgt im Durchschnitt 20,0. Die Streuung, die sich bei 100 Tieren im Gewicht von 5—25 g ergibt, zeigt die Tabelle I. Sie läßt einen deutlichen Gipfel zwischen 18 und 23 erkennen (70%). Das Minimum wie Maximum ergab sich unter Tieren mit 15,1 bezw. 27,1. Bei leichteren Tieren liegt der Quotient meist über, bei schwereren meist unter 20,0. Da zu den späteren Versuchen immer nur Tiergruppen zu 5 Tieren zur Verwendung kamen, wurde die mögliche Streuung noch weiter eingeengt. Der Quotient steigt im Gruppendurchschnitt nie über 23—24.

Tabelle I

3	Tiere	mit	einem	Quotient	von	15
4	-	-	-	-	-	16
5	-	-	-	-	-	17
14	-	-	-	-	-	18
13	-	-	-	-	-	19
20	-	-	-	-	-	20
10	-	-	-	-	-	21
13	-	-	-	-	-	22
11	-	-	-	-	-	23
3	-	-	-	-	-	24
5	-	-	-	-	-	25
2	-	-	-	-	-	26

Es war nun zu entscheiden, ob infantile, noch nicht geschlechtsreife Tiere besser geeignet sind als erwachsene und ob das Geschlecht der Tiere einen Einfluß auf die Reaktion ausübt. Bei Ratten haben Schumacher und Tiror (27) gezeigt, daß erwachsene Tiere auf das corticotrope Hormon besser ansprachen als jugendliche. Bei der weißen Maus ist es umgekehrt. Wie Versuch II zeigt, reagieren junge, noch nicht geschlechtsreife Tiere besser als erwachsene, bei ersteren trat eine Gewichtssteigerung von 45,5%, bei letzteren eine solche von 13,25% auf. Für die infantile Maus sprach auch der Umstand, daß Anselmino und Mitarbeiter an ihr gezeigt haben, daß kein störender Einfluß der Sexualdrüsen vorhanden ist, der bei erwachsenen Mäusen in Betracht zu ziehen wäre. Da es außerdem beim infantilen Tier leichter ist, gewichtsgleiche Tiere zusammenzustellen, benutzten wir in Zukunft für unsere Versuche die junge, noch nicht geschlechtsreife Maus; im Durchschnitt mit einem Gewicht von 6—11 g.

Versuch II.

Vergleich zwischen infantilen und erwachsenen Tieren.
Hormon 1 : 10.

Methode: 1 Gruppe infantiler und 1 Gruppe erwachsener Mäuse zu je 4 Tieren erhalten je 2 × 0,2 ccm pro die. Tötung nach 5 Tagen.

Ergebnis: Gruppe I, infantile Tiere.

Gewicht	Nbn.-Gewicht	Quotient
i. D. 6,91	i. D. 2,025	i. D. 29,10

Gruppe II, erwachsene Tiere.

Gewicht	Nbn.-Gewicht	Quotient
i. D. 16,90	i. D. 3,82	i. D. 22,62

Auch die Frage, ob männliche und weibliche infantile Tiere sich in ihrem Verhalten unterscheiden, wurde geprüft, doch konnte kein Unterschied festgestellt werden. Die nachfolgenden Untersuchungen wurden durchweg an männlichen Tieren vorgenommen, da diese sehr viel leichter zu beschaffen waren. Bei Injektion gleicher Hormonmengen ergaben je 9 männliche und je 9 weibliche infantile Tiere einen Quotienten von 25,1 bezw. 25,6. Es ist demnach gleichgültig, ob weibliche oder männliche Tiere zu den Versuchen Verwendung finden.

Es galt nun weiter zu prüfen, ob bei Injektion von verschiedenen Mengen Hormon verschiedene Effekte erzielt werden. Aus Tabelle III ist zu ersehen, daß die Gewichtszunahme größer wird mit der gespritzen Menge.

Tabelle III.

Verschiedene Dosis, verschiedener Effekt. Zeigt, verglichen mit Versuch IV, daß der akute Versuch die besseren Ergebnisse zeitigt.

Methode: 4 Gruppen von je 5 gleichschweren, infantilen Mäusen. Davon wurden von jeder Gruppe 2 Tiere nach 4 Tagen, 3 Tiere nach 5 Tagen getötet.

Gruppe	I	bekam	0,1	pro	die
-	II	-	0,2	-	-
-	III	-	0,3	-	-
-	IV	-	2 × 0,2	-	-

Ergebnis: nach 4 Tagen

	Dosis pro die	Quotient
A 1	0,1	21,485
A 2	0,2	20,045
A 3	0,3	24,05
A 4	0,4	26,285

Ergebnis: nach 5 Tagen.

	Dosis pro die	Quotient
B 1	0,1	20,146
B 2	0,2	21,89
B 3	0,3	24,93
B 4	0,4	25,96

Ergebnis nach der Gesamtdosis:

Gruppe	Dosis	Quotient
A 1	0,4	21,485
B 1	0,5	20,146
A 2	0,8	20,045
B 2	1,0	21,890
A 3	1,2	24,05
B 3	1,5	24,93
A 4	1,6	26,28
B 4	2,0	25,46

Jedoch ist diese Steigerung nur möglich bis zu einer bestimmten Grenze, die etwa beim Quotienten 30 liegt, eine Steigerung also um 50%. Vereinzelt wurde der Quotient 38 erreicht, aber derartige Wirkungen sind sehr selten. Man hat im Gegenteil den Eindruck, als ob bei zu hoher Dosierung die Bewegung rückläufig und die Gewichtssteigerung wieder geringer würde. Damit war erwiesen, daß nur innerhalb eines relativ engen Bereiches eine lineare Beziehung zwischen Gewichtssteigerung und Hormondosis vorliegt.

Zur Feststellung des Optimums der Reaktion erprobten wir die Wirkung des Hormons bei Injektion einer relativ hohen Dosis über kurze Zeit. Es zeigte sich, daß bei ein- oder zweimaliger Injektion einer größeren Dosis bessere Ergebnisse zu erzielen sind, als bei Applizierung kleiner Mengen über mehrere Tage hinaus. Es ist erstaunlich zu sehen, daß die Reaktion bereits nach 6 Stunden voll ausgebildet ist. Da es bei einer Versuchsdauer von 6 Stunden notwendig ist, einmalig eine relativ große Dosis zu wählen, wählten wir eine Zeitdauer von 24 Stunden mit zweimaliger Injektion im Abstand von etwa 6 Stunden. Bei einer Versuchsdauer von 4 Tagen ist bereits eine schwächere Reaktion zu erkennen.

Versuch IV.

Im akuten Versuch sind bessere Ergebnisse zu erzielen als im chronischen.

Methode: 3 Gruppen von je 2 Tieren. Tötung nach 24 Stunden, zwischen den beiden Injektionen 6 Stunden.

Ergebnis: Gruppe I: $2 \times 0{,}2$ ccm, Hormon 1 : 5.

Gewicht	Nbn.-Gewicht	Quotient
i. D. 9,45	i. D. 2,65	i. D. 28,08

Gruppe II: 2 × 0,3 ccm, Hormon 1 : 5.

Gewicht	Nbn.-Gewicht	Quotient
i. D. 8,85	i. D. 2,8	i. D. 30,79

Ergebnis: Gruppe III: 2 × 0,2 ccm, Hormon 1 : 2,5.

Gewicht	Nbn.-Gewicht	Quotient
i. D. 8,67	i. D. 2,75	i. D. 31,69

Versuch V.

Wirkung des corticotropen Hormons bei verschiedener Tötungszeit. Alle Tiere bekamen 0,05 ccm p. g. Körpergewicht.

Getötet nach	Quotient
6 Stunden	27,8
24 Stunden	27,1
2 Tagen	27,0
3 Tagen	28,7
4 Tagen	25,1

Damit waren die Voraussetzungen für eine quantitative Testmethode geschaffen.

Zunächst gingen wir so vor, daß jedes Tier vor der 1. Injektion gewogen und die zu injizierende Dosis festgestellt wurde. Wir haben jedem Tier pro g Körpergewicht 0,05 ccm unserer Hormonlösung injiziert und erzielten die aus Versuch VI ersichtlichen Resultate.

Versuch VI.

Gruppe von 5 Tieren. Zweimalige Injektion, Tötung nach 24 Stunden.

Ergebnis:

Gewicht	Nbn.-Gewicht	Quotient
i. D. 8,99	i. D. 2,56	i. D. 28,61

Später wurde das Verfahren vereinfacht durch Feststellung des Gruppengewichtes. Je 5 möglichst gewichtsgleiche Tiere wurden ohne Rücksicht auf das Geschlecht zusammen gewogen und bekamen das errechnete Durchschnittsquantum injiziert, und zwar in 2 Hälften mit einer Pause von 5—6 Stunden. 24 Stunden nach der ersten Injektion wurden die Tiere getötet. Jetzt wurde jedes Tier einzeln gewogen, die Nebennieren freipräpariert und gewogen und der Quotient

$$\frac{\text{Nebennierengewicht in mg}}{\text{Körpergewicht in g}} \cdot 100$$

berechnet und der Durchschnitt aus den 5 Quotienten festgestellt.

Versuch VII.

Gewichtssteigerung um 50%.

Methode: 2 Gruppen von je 5 Tieren bekommen im akuten Versuch 0,05 ccm pro g Körpergewicht injiziert. Hormon 1 : 5.

Ergebnis:

Gruppe I:

Gewicht	Nbn.-Gewicht	Quotient
i. D. 8,249	i. D. 2,44	i. D. 29,55

Gruppe II:

Gewicht	Nbn.-Gewicht	Quotient
i. D. 8,755	i. D. 2,7	i. D. 30,85

Versuch VII zeigte recht genaue Ergebnisse und es kann auf Grund dieser Versuche gesagt werden, daß die Dosis 0,05 ccm pro g-Körpergewicht des normalen (1 : 5) corticotropen Hormons eine Gewichtssteigerung der Nebennieren um 50%, d. h. einen Durchschnittsquotienten von 30,0 erzielt.

Aus diesen Untersuchungen ergibt sich demnach die Definition einer corticotropen Einheit (C. E.) wie folgt:

Eine C. E. ist diejenige Hormonmenge, die pro g Körpergewicht bei einer Gruppe von 5 infantilen Mäusen, auf 2 Injektionen im Abstand von 6 Stunden verteilt, nach 24 Stunden eine Steigerung des Nebennierengewichtes eben um 50% hervorruft bezw. den Quotienten

$$\frac{\text{Nebennierengewicht in mg}}{\text{Körpergewicht in g}} \cdot 100,$$

der beim unbehandelten Tiere 20,0 beträgt, eben auf 30,0 steigert. Bei der von uns verwandten Hormonlösung (0,2 g Hinterlappentrockenpulver pro ccm) lag diese Konzentration bei 0,05 ccm. 0,2 g unseres Acetontrockenpulvers würden demnach 20 C. E. enthalten.

Von jeder biologischen Einheit verlangt man Angaben über den Grad der Genauigkeit, mit der sie arbeitet. Zu diesem Zweck haben wir 3 dem Untersucher unbekannte Lösungen auf ihren Hormongehalt ausgetestet.

Wir spritzten zunächst die „Normaldosis", 0,05 ccm pro g Körpergewicht. Die Ergebnisse waren bei Lösung A Durchschnittsquotient 25,10, bei B 22,13 und bei C 30,50. Wir zogen hieraus den Schluß, daß A und B weniger als unser Normalhormon, C mindestens ebensoviel — wenn nicht mehr — enthalte.

Nun wurde A auf die Hälfte, B auf ein Drittel eingeengt, während C auf die Hälfte verdünnt wurde.

Ergebnis: A 32,23
B 32,16
C 29,48

Aus diesen Ergebnissen konnte bereits ein ungefährer Schluß auf die Konzentration der Lösungen gezogen werden, jedoch genügten sie noch nicht. Also injizierten wir beim nächsten Versuch von A und B 0,03 ccm, von Lösung C 0,06 ccm. Wichtig ist, daß bei allen Versuchen das Gewicht der Tiere etwa das Gleiche ist (i. D. 6—8 g), ebenso Injektions- und Tötungsmodus.

Diesmal waren die Ergebnisse bei A und B wieder unter 30,0, bei A 25,37, bei B 27,12, während C mit 28,70 etwa gleich blieb. Nun blieben wir mit unseren Dosen zwischen den Mengen der ersten Versuche, wir spritzten von A und B 0,045 ccm pro g Körpergewicht, von C, 0,055 ccm und erzielten nun im Schlußversuch die aus Versuch VIII ersichtlichen Ergebnisse.

Versuch VIII.
(Schlußversuch.)
Methode wie vorher.

Lösung A: Dosis 0,045 pro g Körpergewicht.

Gewicht	Nbn.-Gewicht	Quotient
i. D. 6,79	i. D. 2,04	i. D. 30,15

Lösung B: Dosis 0,045 pro g Kpg. 2 Tiere eingegangen.

Gewicht	Nbn.-Gewicht	Quotient
i. D. 7,85	i. D. 2,3	i. D. 30,08

Lösung C: Dosis 0,055 pro g Körpergewicht.

Gewicht	Nbn.-Gewicht	Quotient
i. D. 7,60	i. D. 2,26	i. D. 29,74

Beispiel für die Ausrechnung:

Lösung B ergab bei Injektion von 0,05 ccm pro g Körpergewicht einen Gruppendurchschnitt von 22,13. Eingeengt auf ⅓ war das Ergebnis 32,16. Die Dosis 0,03 pro g ergab 27,12 und Dosis 0,045 hatte das Ergebnis 30,08. Die Dosis, die eben einen Quotienten von 30,0 hervorrief, mußte zwischen 0,03 und 0,045 liegen, also 0,038 betragen, d. h. in 1 ccm der Lösung waren 26,3 C. E. Da die Ausgangslösung auf ⅓ eingeengt war, wurden also für Lösung B 8,8 C. E. gefunden. Auf ähnliche Weise wurden die anderen beiden Lösungen auch berechnet, das Endresultat war:

Vorgelegt:	Gefunden:	% Fehler:
Lösung A: 16 C.E.	13,3 C. E.	16
Lösung B: 12 C.E.	8,8 C. E.	26
Lösung C: 25 C.E.	20,0 C. E.	20

Man darf wohl sagen, daß die Methode für eine biologische Testmethode eine hinreichende Genauigkeit liefert. Es ist nicht daran zu zweifeln, daß es bei der Prüfung einer Lösung durch eine noch größere Anzahl von Versuchen gelingt, die Genauigkeit zu erhöhen.

Wie Beck (28) in seiner Arbeit über das Melanophorenhormon hervorhebt, „liegt kein Grund vor, die Hypertrophie der Nebennierenrinde etwa für die Reaktion auf eine chronische Intoxikation zu betrachten". Auch um eine Eiweißwirkung, die — wie bereits oben bemerkt — eine Rindenhyperplasie hervorrufen kann, handelt es sich nicht, da ja die Lösung mit Sulfosalizylsäure enteiweißt wurde. Die Versuche zeigen eindeutig, daß das aus der Hypophyse gewonnene corticotrope Hormon — und zwar sowohl das Vorder- als auch das Hinterlappenhormon — einen hypertrophierenden Einfluß auf die Nebennieren ausübt, der sich in erster Linie auf die Rinde erstreckt. Es ist gelungen, diesen Einfluß zahlenmäßig genau festzulegen, so daß es möglich ist, aus der Steigerung des Nebennierengewichts über den Durchschnittsquotienten 20,0 die Menge des in der injizierten Lösung vorhandenen Hormons auszutesten. Es muß aber noch einmal darauf hingewiesen werden, daß es zur Erzielung genauer und einwandfreier Ergebnisse unbedingt erforderlich ist, daß die Untersucher sich mit der Methode genau vertraut machen.

Zusammenfassung

Es wird über eine quantitative Methode zur Bestimmung des corticotropen Hormons an der weißen Maus berichtet.

1. Das corticotrope Hormon kommt sowohl im Hypophysenvorderlappen (HVL) als auch im Hypophysenhinterlappen (HHL) vor und bewirkt eine Steigerung des Nebennierengewichts durch Hypertrophie der Rinde.

2. Das Verhältnis des Gewichts der Nebennieren zum Körpergewicht ist bei der weißen Maus konstant, und zwar ist der Durchschnittsquotient für

$$\frac{\text{Nebennierengewicht in mg}}{\text{Körpergewicht in g}} \cdot 100 = 20{,}0,$$

3. Infantile weiße Mäuse eignen sich besser zu gleichartigen Versuchszwecken, als erwachsene.

4. Die Reaktion ist bei weiblichen und männlichen Tieren gleich.

5. Mit größerer Dosis steigt auch die Gewichtszunahme, jedoch nur bis zu einer gewissen Grenze, die etwa beim Quotienten 30,0 liegt.

6. Im akuten Versuch sind bessere Ergebnisse zu erzielen, als im chronischen.

7. Eine corticotrope Einheit (C. E.) wird wie folgt definiert: 1. C. E. ist diejenige Hormonmenge, die, pro g Körpergewicht bei einer Gruppe von 5 infantilen Mäusen auf 2 Injektionen im Abstand von 6 Stunden verteilt, nach 24 Stunden eine Steigerung des Nebennierengewichtes um 50% hervorruft bezw. den Quotienten

$$\frac{\text{Nebennierengewicht in mg}}{\text{Körpergewicht in g}} \cdot 100 \text{ eben auf 30,0 erhöht.}$$

8. Drei Hormonlösungen unbekannter Konzentration wurden mit dieser Methode mit einer Genauigkeit von 16, 20 und 26% ausgetestet.

Literatur

1. Bergmann: zit. nach Kohn.
2. Remak: zit. nach Kohn.
3. Weigert: zit. nach Moehlig und Kohn.
4. Zander: zit. nach Moehlig und Kohn.
5. Ascoli und Legnani: Münch. Med. Wochenschr. 59, 1912, 1518.
6. Hoffstätter: Wschr. Geburtsh. 49, 387, 1919.
7. Kohn: Archiv f. Mikrosk. Anat. u. Entw. mech. Bd. 102, 111, 1924.
8. Moehlig: Annals of Internat. Med. 1928, Vol. I, 563, 192.
9. Falta: zit. nach Moehlig.
10. Kraus: zit. nach Moehlig.
11. P. E. Smith: American Anat. Mem. Wistar Institute Philadelphia, 11, 1920.
12. Bauer: Klin. Woch. 1933 Nr. 40.
13. D. Barr: zit. nach Bauer.
14. Loeser: Klin. Woch. 12/1933, 41.
15. Cushing: zit. nach Bauer.
16. Landau-Rautmann: zit. nach Berberich u. Fischer-Wasels.
17. Collip, J. B. E. Anderson u. W. L. Thomson: Lancet 1933, I, 347.
18. Emery, E. F. und C. A. Winter: Anat. Hec. 60, 381 (1934).
19. Anselmino, R. J., F. Hoffmann u. K. Herder: Klinische Wochenschrift 1934, I, 209 u. Arch. Gyn. 157, 86 (1934).
20. Mackay, E. N. and L. L. Mackay: Z. exper. Med. 14, 395 (1926) und 16, 429 (1927).
21. Rowlands, J. W., u. A. St. Parkes: Biochemic, J. 28, 1829 (1934).
22. Heyl, J. G. u. E. Laqueur: Arch. internat. Pharmakodynamie. 49, 338 (1935).
23. Jores, A., u. H. Beck: Z. exper. Med. 94, 293 (1934).
24. Jores, A.: erscheint Klin. Wochenschrift.
25. Freemann, W.: Human Biol. 6, 489 (1934).
26. Loeser, A.: Arch. exper. Path. 173, 62 (1933).
27. Schumacker, H. B., u. W. N. Tiror: Endocrinology, 18, 676 (1934).
28. Beck, H.: Inaug.-Diss.: Über Beziehungen des Melanophorenhormons zur Nebennierenentwicklung.

Lebenslauf

Ich, Joseph August Götte, wurde geboren am 6. November 1912 zu Warburg i. Westfalen als Sohn des Hotelbesitzers Hermann Götte und seiner Ehefrau Maria, geb. Franke. Nach dreijährigem Besuch der Volksschule trat ich Ostern 1922 in das humanistische Gymnasium meiner Vaterstadt ein, das ich Ostern 1931 mit dem Zeugnis der Reife verließ.

Ich beschloß, Zahnheilkunde zu studieren, und immatrikulierte mich im S.-S. 1931 an der Universität Göttingen, wo ich nach drei Semestern das Physikum bestand. Im W.-S. 1932/33 und im S.-S. 1933 besuchte ich die Universität München, seit W.-S. 1933/34 die Universität Rostock. Am 15. Februar 1935 meldete ich mich zum Staatsexamen, unter gleichzeitiger Exmatrikulation.